

ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА COVID 19

*Център за превенция на здравето
Трудова медицина ООД*

Съществуват **два основни типа тестове** за COVID-19:

- **RT-PCR** (real time reverse transcription–polymerase chain reaction) т.е. тест, изследващ нуклеиновите киселини на SARS-CoV-2 вируса и
- **тест за антитела**, даващи качествена оценка в съответната проба.

Резултатът от RT-PCR теста е откриване на SARS-CoV-2- РНК (рибонуклеинова киселина). RT-PCR е единственият одобрен от FDA и прилаган (Food and Drug Administration, USA) тест в момента.

Тестовите за антитела се извършват по два метода: ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) или lateral flow.

RT-PCR.

Пробата използвана при RT-PCR е назофарингеална или орофарингеална натривка (проба от различни части на фаринкса), храчка, аспирати от горните и долните отдели на дихателната система.

RT-PCR има >90% сензитивност и специфичност (процентно съотношение на точност на теста, отнесен към фалшиво положителни и фалшиво отрицателни резултати), но вземането на пробата и вирусното натоварване могат да повлияят чувствителността на теста.

Положителен резултат означава наличие на SARS-CoV-2-РНК /рибонуклеинова киселина/, която обикновено се установява в дихателните пътища във фазата на активна инфекция. Необходимо е резултатите да се интерпретират заедно с клиничните данни, както и с данните от други диагностични тестове.

Положителен резултат не изключва наличието на съпътстваща друга вирусна или бактериална инфекция. Негативните резултати не изключват SARS-CoV-2 инфекция и не трябва да се използват като единствен източник за вземане на решение за поведение, а трябва да се разглеждат заедно с данните, получени от пациента, клиничното наблюдение и епидемиологичните данни.

Изследването за антитела

Извършва се в кръв или серум при ELISA и lateral flow.

По отношение на тестовите за изследване на антитела: изследват се два вида антитела – IgM и IgG:

- **IgM** (immunoglobulin от клас M) - антитела с високо молекулно тегло, появяващи се в ранните фази на имунния отговор), появяват се 5 – 10 дни (според други мнения дори 7-12 дни) след инфектирането;
- **IgG** (immunoglobulin от клас G) - антитела с по-ниско молекулно тегло, явяващи се в по-късните фази на имунния отговор) започват да се синтезират след 10 ден и ще се установяват вероятно с тестове след 21 ден. Това означава, че в първите дни, когато не

могат да се установят антитела, пациент, който е положителен за вируса, ще покаже отрицателен резултат като антитела т.е. ще се получи фалшиво негативна диагноза.

Ако пациентът е тестван след появата на IgG, това би означавало наличие на имунна реакция спрямо вируса, но не означава задължително наличие към момента на активна инфекция. Възможни са и положителни реакции при наличие на антитела към други видове коронавируси. От друга страна, пациенти, които имат заболявания, водещи до нарушения в имунитета или приемат медикаменти, които потискат определени имунни механизми (имуносупресори) могат да не изградят или да изградят много по-късно антитела.

Съществуват бързи тестове, които използват кръвна проба, вкл. такава взета чрез убождане на пръст, но за някои от тях съществуват опасения за точността им. Други са в процес на одобрение от регулаторните органи (един от тестовете е получил одобрение на 01.04.2020 г. от FDA по спешна процедура за одобрение). Те използват предимно цялостна кръв или серум и резултатът, който се получава трябва да се интерпретира, вземайки предвид всички описани фактори.

За тези с негативен резултат, но при наличие на други данни, насочващи към диагнозата, се изисква потвърждение в рамките на дни, а положителните резултати ще се потвърждават и с друг метод (RT-PCR).

По отношение на видовете тестове за антитела **ELISA** се приема за по-надежден метод в сравнение с lateral flow. При lateral flow съществуват опасения за точността. Необходимо е всеки такъв тест да бъде валидиран срещу златния стандарт RT-PCR, за да бъде установена диагностичната точност. Поради това съществуват и опасенията, че бързите тестове за COVID-19 IgG/IgM няма да имат основна роля в диагнозата, особено в ранните стадии.

По същата процедура за спешно одобрение FDA е одобрила и бързи тестове ID NOW™ COVID-19 в последните дни на март 2020 г. Разликата е, че тези тестове изследват нуклеиновите киселини на вируса. Използват се намазки от гърлен, носен, назофарингеален или орофарингеален секрет, като те се изследват директно или се пренасят в съответна транспортна среда за вируси. Предстои тестовете да бъдат разпространени широко и да бъдат получени първите резултати в реална клинична практика. Компанията стъпва върху платформата ID NOW™, която се използва за молекулярна диагностика на грипни вируси А и В, стрептококи А и респираторен синцитиален вирус (respiratory syncytial virus, RSV).

ID NOW е вторият молекулярно диагностичен тест на същата компания за SARS-CoV-2. Първият е одобрен на 18.03.2020 г. - m2000 RealTime system, който използва PCR.

Такива са и **заключенията на European Centre for Disease Prevention and Control**. Те отбелязват, че съществуват три устройства за бързи тестове, които изследват антигени (т.е. вирусни частици), отбелязани със CE към 26.03.2020 г. и над 60 такива за бързи тестове, изследващи антитела.

Част от тестовете за антитела не са направени за клинична употреба, а са разработка на научни организации, които потенциално могат да станат основа за тестове за по-широка употреба.

За някои от тестовете, особено такива за самостоятелно тестване, членовете на Commission working group of Member States са издали предупреждения срещу тях или дори са ги забранили. В момента се провеждат процедури по валидирането на някои от тези тестове в страни-членки на Европейския съюз, очакват се научните публикации с резултатите им, за да се прецени кои ще могат да бъдат одобрени.

Засега препоръките за провеждане на бързи тестове, както и на одобрените тестове са за:

Тези, които имат риск за развитие на заболяването; пациенти с остри респираторни синдроми, които изискват хоспитализация и интензивни грижи при потенциална инфекция с COVID-19; симптоматични работещи в здравната сфера; симптоматични пациенти, живеещи в затворена среда като затвори или заведения за оказване на грижа за възрастни и болни хора като особено уязвими са възрастните пациенти със съпътстващи белодробни заболявания, малигнни заболявания, сърдечна недостатъчност, мозъчносъдова болест, бъбречни и чернодробни заболявания, хипертония, диабет, имунокомпрометирани.

Накратко,

PCR тестовете са тези, които дават информация за заболелите и безсимптомните носители на вируса.

PCR тестовете биха показали кои от симптомните или асимптомните носители на вируса след начален положителен и последващи отрицателни резултати биха могли да спрат карантината и да се върнат на работа.

докато

Тестовете с антитела се използват за изследване на имунния отговор, като резултатът се интерпретира в съответствие с посочените по-горе ограничения. Те ще имат основно значение за установяване на заболелите и впоследствие възстановили се пациенти, но имат ограничения в острата фаза. Много от серопозитивните пациенти ще продължат да бъдат разпространители на инфекцията в продължение на седмици,

IgG/IgM тестовете ще позволят да се види при кои от хората има образувани антитела, т.е. те са се срещнали с вируса и са изявили имунна реакция към него (при IgG антитела инфекцията е вероятно над 21 дни).

Въпросите, за това **как се изгражда имунитет и за какъв период** от време, все още остават, тъй като не е изминал достатъчно продължителен период и не е имало възможност за достатъчен брой изследвания, за да се получи адекватно количество информация, която да позволи надеждни заключения.

(По материали на FDA и ECDPC)

Д-р Лилия Владимирова

Доц. Кирил Карамфилов

Д-р Петя Георева

10.04.2020